

課題番号 59

## チャンネルロドプシン遺伝子の導入により光刺激駆動する ニワトリ胚前肢の発生の変化

### [1] 組織

代表者：清水 正宏

(大阪大学大学院基礎工学研究科)

対応者：小椋 利彦

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 94,700円,  
旅費 355,300円

### [2] 研究経過

ニワトリ胚の前肢部分にチャンネルロドプシン遺伝子を導入し、光刺激により駆動することで筋の発生の変化、出力特性の変化を調査することを目的とする。近年、細胞への機械刺激が、発生過程や形態に影響を与えることが報告されてきた。一方で、ニワトリ胚の筋構造は、卵の内部であっても、一定以上のステージへ進むとその筋は駆動能を有すると考えられる。そして、筋肉や腱の発生は、筋肉の自発的な収縮によってその成熟を促されている (Development, 138, 3247, 2011)。このとき、もし発生段階にある胚の筋を外部からの制御により駆動することができれば、それが機械刺激となり、ニワトリ胚の筋組織の発生過程や形態が変化する可能性がある。このようなことを検証するためには、外部から発生段階のニワトリ胚の筋を非侵襲的に駆動する方法が必要となる。電気刺激は、細胞に対して侵襲的であること、また局所的な刺激が難しいことから難がある。以上の事情から、本研究では、チャンネルロドプシン遺伝子をニワトリ胚の前肢領域に導入し、培養の過程で定期的に光刺激を導入部分に印加することで筋の駆動を誘発する方法を採用する。

本年度は、協調的に拍動する心筋細胞における機械刺激の影響を検査することを目的とした。本研究では、まず、周期的に収縮するラット初代培養心筋細胞を播種したコラーゲンシートを心筋振動子として定義した。ここでは、二つの心筋振動子がPDMSシートで接続される実験系を作成した。PDMSには細胞が接着しないことを利用して、心筋振動子間には機械的な相互作用のみが存在するように設定した。

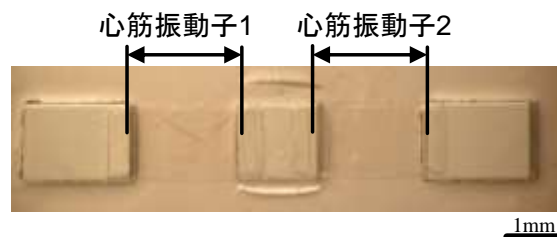


図 心筋振動子の結合振動子系プラットフォーム

以上のようにして、心筋振動子の結合振動子系のプラットフォームを作成し、協調的に拍動する心筋細胞における機械刺激の影響を検証した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。まず、第一に、心筋振動子の結合振動子系プラットフォームを開発した。第二に、二つの心筋振動子が機械的に相互作用している場合に、固有の振動周波数が変化することを確認した。非線形振動子である心筋振動子は、単一の振動子であっても固有の振動周波数を有する。これが機械的に結合された結合振動子系になると相互引き込み現象を起し協調的に振動する。生化学的な影響としては、振動が機械的に他方の振動子に伝わり、コラーゲンシート上の心筋細胞への機械刺激となることで、心筋細胞の拍動タイミングを調節する興奮-収縮間協調として働き、心筋細胞群の協調が起こる。これが、理論通りに起こるためには、適切な機械的結合強度が必要であり、本年度において、心筋振動子間のPDMSシートの硬さを変更することで成立条件を調査した。結果として、機械的な相互作用が二つの心筋振動子のリズムを調節することを確認した。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本申請は、加齢医学研究所の推進する細胞生物学による生物メカニズムの機序の解明のみならず、制御工学、ロボット工学とも融合する領域横断的なプロジェクトである。本共同研究は、異分野の研究者

間の交流を飛躍的に活性化した。その結果としてプロジェクトの発展は多岐にわたり、代表者が公募班として参加する新学術領域研究分子ロボティクスにおける共同研究や、対応者である小椋教授との細胞の機械刺激応答に関する新規プロジェクトに発展した。また、本研究で明らかになった、機械的相互作用による心筋振動子の相互引き込み現象は、心筋細胞で駆動するマイクロロボットの開発に結びつき、今後の発展が期待されている。

#### [4] 成果資料

- (1) K. Mori, M. Shimizu, K. Miyasaka, T. Ogura, and K. Hosoda: “Remodeling Muscle Cells by Inducing Mechanical Stimulus”, in Proc. of The 4th International Conference on Biomimetic and Biohybrid Systems (Living Machines 2015), pp227-230, 2015.